

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ZUR HYALURONIDASEHEMMENDEN WIRKUNG
DES PARACETAMOL

Ursula Menke

1967

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. Seitz

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ZUR HYALURONIDASEHEMMENDEN WIRKUNG DES PARACETAMOL

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Ursula M e n k e
aus Betzdorf

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. H. Mathies
Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz
Dekan: Prof. Dr. F. Holle

Tag der mündlichen Prüfung: 3. 10. 1967



MEINER MUTTER

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
PROBLEMATIK	7
EIGENE VERSUCHE	10
Methodik	10
Versuchsanordnungen	11
Tabellen	12
Abbildungen	16
STATISTISCHE BEWERTUNG	20
Beschreibende Statistik	20
Prüfende Statistik	22
Tabellen	25
Abbildungen	30
DISKUSSION	40
ZUSAMMENFASSUNG	41
LITERATURVERZEICHNIS	43

PROBLEMATIK

Beim Rheumatismus ist eine erhöhte Kapillarpermeabilität von ätiologischer Bedeutung¹⁻⁶. Entscheidend für die Aufrechterhaltung einer normalen Permeabilität ist nach GIBIAN⁷ das Hyaluronsäure-Hyaluronidasesystem. Die Hyaluronsäure, eine Mucopolysaccharidsäure, findet sich als Kittsubstanz im wesentlichen in den Bindegewebs- und Stützgewebssubstanzen. Sie wird durch die Hyaluronidase in Glucuronsäure und Azetylglukosamin gespalten. Eine erhöhte Aktivität dieses Fermentes bewirkt eine gesteigerte Permeabilität der Zwischenzellsubstanz. Diese wiederum hat einen vermehrten Flüssigkeitsaustritt aus den Kapillaren zur Folge. Es entsteht ein perivaskuläres Ödem und die Sauerstoffversorgung des betroffenen Gewebes ist vermindert. Nach GOOD⁸ ist eine langandauernde Hypoxämie die Ursache für die charakteristischen anatomischen und histologischen Veränderungen beim Rheumatismus.

Nach Auffassung mancher Autoren soll die Wirkung der antirheumatischen Substanzen auf einer Hemmung der Hyaluronidaseaktivität beruhen. In tierexperimentellen Untersuchungen konnten MATHIES und Mitarbeiter^{9-14, 16-18, 20-21} weitgehend aufklären, über welchen Wirkungsmechanismus der hyaluronidasehemmende Effekt einer antirheumatisch wirksamen Substanz zustande kommt. Mit der Methodik des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreidings konnte der hyaluronidasehemmende Effekt vieler Substanzen, u. a. der Salicylate, der Cortisonderivate, des Phenylbutazons, der Moor- und Schwefelbäder gesichert werden. Weiterhin konnte gezeigt werden, daß der hyaluronidasehemmende Effekt dieser Substanzen bei adrenelektomierten Ratten ausblieb. Damit wurde es wahrscheinlich, daß der Nebenniere eine entscheidende Rolle im Wirkungsablauf des hyaluronidasehemmenden Mechanismus zugeschrieben werden muß, ohne daß zunächst aus den Versuchen zu ersehen war, ob das Nebennierenmark oder die Nebennierenrinde den entscheidenden Anteil darstellt.

Nach SAYERS und SAYERS¹⁵ ist ein Abfall des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere als Ausdruck einer Nebennierenrindenstimulierung zu werten. Untersuchungen von DOMENJOZ¹⁹ und MATHIES²² zeigten, daß alle geprüften hyaluronidasehemmenden Substanzen eine signifikante Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere bewirken, die bei hypophysektomierten Ratten nicht zu beobachten war. Damit schien zunächst gesichert, daß die hyaluronidasehemmenden Substanzen die Nebennierenrinde über die Hypophyse stimulieren. Andererseits konnte jedoch festgestellt werden, daß der hyaluronidasehemmende Effekt entsprechend wirksamer Substanzen bei hypophysektomierten

mierten Ratten erhalten bleibt^{12, 13}. Daraus kann gefolgert werden, daß die Stimulierung der Nebennierenrinde nicht für das Zustandekommen des hyaluronidasehemmenden Effektes maßgebend ist.

Da aber durch die Ergebnisse der vorangegangenen Untersuchungen gezeigt werden konnte, daß die Anwesenheit der Nebenniere für das Zustandekommen einer Hemmung der Hyaluronidaseaktivität erforderlich ist, wurde eine Beteiligung des Nebennierenmarks angenommen. MATHIES und Mitarbeiter^{10, 16, 17} zeigten, daß die Nebennierenmarks-Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin sowohl bei intakten als auch bei adrenelektomierten Ratten eine Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings bewirken. Als eine weitere Bestätigung für die Annahme einer über das Nebennierenmark laufenden Wirkung hyaluronidasehemmender Substanzen konnten die Versuche von MATHIES und Mitarbeitern^{16, 18} angesehen werden, in denen gezeigt wurde, daß der hyaluronidasehemmende Effekt sowohl der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin als auch verschiedener anderer antirheumatisch wirkenden Substanzen durch das Adrenolyticum Ergotamintartrat blockiert wird. Nach BACHMANN²³ ist das Nebennierenmark als ein differenziertes Ganglion anzusehen, das nach EICHHOLTZ²⁴ durch Ganglienblocker gehemmt wird. Die Annahme, daß Ganglienblocker ebenfalls den Effekt hyaluronidasehemmender Substanzen aufzuheben vermögen, konnte durch die Untersuchungen von SCHWALBACH²⁰ und OESTREICH²¹ bestätigt werden, die hyaluronidasehemmende Wirkung des experimentell zugeführten Adrenalin und Noradrenalin bleibt jedoch erhalten²¹. Aus diesen Versuchsergebnissen konnte gefolgert werden, daß das hyaluronidasehemmende Prinzip der geprüften antirheumatisch wirkenden Substanzen auf eine Katecholaminausschüttung des Nebennierenmarks zurückzuführen ist. Nach Untersuchungen von SCHEUFELE¹⁶, in denen festgestellt wurde, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins bei adrenelektomierten Ratten erst dann bemerkbar wird, wenn die mydriatische Wirkung des Adrenalins bereits abgeklungen ist, war jedoch zu vermuten, daß den Katecholaminen keine direkte Wirkung bezüglich der Hyaluronidasehemmung zugesprochen werden kann.

Auf der Suche nach körpereigenen Substanzen, die evtl. im Anschluß an die Katecholaminausschüttung in den Wirkungsmechanismus der Hyaluronidasehemmung eingeschaltet sind, wurden von MATHIES und Mitarbeitern²⁵ das Histamin und Heparin in die Untersuchungen einbezogen. Nach STAUB²⁶ ist bekannt, daß Adrenalin zu einer Histaminfreisetzung führt. Sowohl Histamin als auch Heparin zeigen in vitro eine hyaluronidasehemmende Wirkung und sind auch in vivo in kleinen Dosen hyaluronidasehemmend wirksam. Ferner wurde festgestellt, daß dieser hyaluronidasehemmende Effekt durch Avil als Antihistaminicum einerseits und durch Protaminsulfat als heparin-inaktivierende Substanz andererseits aufgehoben wird. Ebenso

wird die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch die Katecholamine, die Pyrazolonkörper sowie die Salicylate durch das Protaminsulfat blockiert. Bei gleichzeitiger Gabe eines Antihistaminicums mit Heparin wird die Hyaluronidasehemmung des Heparins durch das Antihistaminicum deutlich reduziert. Diese Versuchsergebnisse lassen auf eine evtl. vorhandene abhängig-gemeinsame Wirkung von Heparin und Histamin für das Zustandekommen des Effektes hyaluronidasehemmender Substanzen schließen.

Im Rahmen der Bemühungen, weitere Stoffe auf ihre hyaluronidasehemmende Wirkung zu prüfen, soll nunmehr das in seiner hyaluronidasehemmenden Wirkung bisher nicht untersuchte Paracetamol einer eingehenden Betrachtung unterzogen werden. Nach KUSCHINSKY und LÜLLMANN²⁷ wird das Analgeticum und Antipyreticum Phenacetin im Organismus in Paracetamol (N-Acetyl-p-Aminophenol) überführt, das seinerseits ebenfalls analgetisch und antipyretisch wirkt. Es ist bekannt, daß Phenacetin ein Methämoglobinbildner ist, und nach MIESCHER und PLETSCHER²⁸ wird durch Abusus phenacetinhaltiger Analgetica eine Anämie hervorgerufen. In vergleichenden Untersuchungen über die Toxizität von Phenacetin und Paracetamol konnte VEST²⁹ nachweisen, daß dem Paracetamol eine geringere Toxizität zugeschrieben werden kann. Paracetamol wird rasch resorbiert und im Plasma gebunden. Nach GWILT, ROBERTSON und Mc. CHESNEY³⁰ ist das Verhältnis der Konzentration von Paracetamol fünf Minuten nach oraler Applikation zwischen Gesamtblut und Plasma wie 1:1, ebenso die Konzentration zwischen Gewebsflüssigkeit und Plasma 1:1. Nach vier Stunden werden über 90% zum Teil in freier Form, zum Teil als Glucuronid ausgeschieden.

In der vorgelegten Arbeit war zunächst zu untersuchen, ob dem Paracetamol ein hyaluronidasehemmender Effekt zugesprochen werden kann, und weiterhin waren die Mengen auszutesten, die erforderlich sind, um eine hyaluronidasehemmende Wirkung zu erzielen.

EIGENE VERSUCHE

Methodik

Bei den Versuchen wurden männliche weiße Ratten (Wistar-Böcke) mit einem Gewicht von 180-265g verwendet. Die einzelnen Versuchsreihen wurden an Tiergruppen von je sechs Versuchstieren durchgeführt. Die Durchführung der Versuche erfolgte in Evipan-Na-Narkose, wobei 30 mg Evipan pro 100g Tier subcutan injiziert wurden. Nach WILHELM³¹ haben die Barbiturate keinen störenden Einfluß auf die Hyaluronidaseaktivität. Eine etwaig auftretende Hyaluronidasehemmung wurde mit Hilfe des Hyaluronidase-Spreadings ermittelt. Nachdem die Bauchhaut der Tiere vorsichtig mit Pilca enthaart worden war, wurde vor und zu bestimmten Zeiten nach der oralen Applikation von Paracetamol je eine Farbstoff (F)- und eine Farbstoff-Hyaluronidase (FH)-Quaddel mit einer 18-er Kanüle streng intracutan gesetzt. Die Farbstoffquaddeln wurden mit 0,1 ccm einer 0,07%igen Evans-blue-Lösung gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff-Hyaluronidase löste man eine Trockenampulle Kinetin (=Hyaluronidase), die 150 I.E. enthält, in 2 ccm der oben genannten Farbstofflösung. Somit kamen pro Injektion von 0,1 ccm Farbstoff-Hyaluronidaselösung 7,5 I.E. zur Wirkung. Nach jeweils zehn Minuten post injectionem wurden die äußeren Konturen der Quaddeln mit einem Tintenstift gekennzeichnet, auf einen von seinen Schichten befreiten Röntgenfilm übertragen und planimetrisch ausgemessen. Die Ausbreitung der Quaddeln erfolgt nach MADINA VEITIA³² zweiphasisch, wobei nur innerhalb der ersten zehn Minuten ein sicherer hyaluronidasehemmender Effekt vorliegt, während anschließend resorptive Prozesse überwiegen. GIBLAN⁷ konnte nachweisen, daß die Diffusion einer intracutan gesetzten Quaddel von dem Druck abhängig ist, der ihr von der Umgebung entgegengesetzt wird. Wird dieser Gewebswiderstand durch eine verstärkte Hyaluronidaseaktivität vermindert, so wirkt sich dies begünstigend auf die Ausbreitung der Quaddeln aus. Die Gabe einer hyaluronidasehemmenden Substanz vermindert diesen Effekt. Insgesamt wurden vier verschiedene Versuchsanordnungen geprüft, wobei innerhalb jeder Versuchsanordnung verschiedene Versuchsreihen durchgeführt wurden. Innerhalb der gleichen Versuchsanordnung wurden mit den verschiedenen Versuchsreihen verschiedene Zeitpunkte nach Applikation von Paracetamol erfaßt. Für die einzelnen Versuchsanordnungen wurde Paracetamol in bestimmten unten angegebenen Konzentrationen in Tyloseschleim gelöst. Nach BATISWEILER¹⁴ hat Tyloseschleim keinen Einfluß auf die Hyaluronidaseaktivität. Von dieser Lösung wurde jeweils

1 ccm pro 200g Ratte mittels einer Schlundsonde peroral appliziert.

Versuchsanordnung I

Zunächst wurden je eine Farbstoff- und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Nach Ablauf von zehn Minuten wurde die Ausbreitung in der Haut des Tieres gemessen. Danach wurde 1 ccm ParacetamolLösung pro 200g Tier in einer Konzentration von 400 mg/kg (= 80 mg/ccm) peroral verabreicht. In den Versuchsreihen a) 30 und 60 Minuten, b) 90 und 120 Minuten, c) 150 und 180 Minuten wurden jeweils eine Farbstoff- und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle I aufgezeichnet.

Versuchsanordnung II

Nach Ablesen der Vorquaddeln wurde pro 200g Tier 1 ccm ParacetamolLösung in einer Konzentration von 200 mg/kg (= 40 mg/ccm) peroral gegeben. In den Versuchsreihen a) 30 und 60 Minuten, b) 90 und 120 Minuten, c) 150 und 180 Minuten wurden je eine Farbstoff- und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle II aufgezeichnet.

Versuchsanordnung III

Nach Ablesen der Vorquaddeln wurde pro 200g Tier 1 ccm ParacetamolLösung in einer Konzentration von 100 mg/kg (= 20 mg/ccm) peroral gegeben. In den Versuchsreihen a) 30 und 60 Minuten, b) 90 und 120 Minuten wurden je eine Farbstoff- und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle III aufgezeichnet.

Versuchsanordnung IV

Nach Ablesen der Vorquaddeln wurde pro 200g Tier 1 ccm ParacetamolLösung in einer Konzentration von 50 mg/kg (= 10 mg/ccm) peroral gegeben. Nach 30 und 60 Minuten wurden je eine Farbstoff- und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle IV aufgezeichnet.

Tabelle I

Einzelergebnisse der Versuchsanordnung I: 400 mg/kg Tier

Tier	F_v	F_{30}	F_{60}	FH_v	FH_{30}	FH_{60}
1 200g	130	128	130	180	180	160
2 215g	120	116	112	210	152	160
3 220g	130	125	115	200	160	180
4 225g	120	120	116	200	160	168
5 200g	116	125	130	190	160	180
6 205g	120	120	116	200	170	180

Tier	F_v	F_{90}	F_{120}	FH_v	FH_{90}	FH_{120}
1 195g	130	125	130	210	170	160
2 210g	120	116	116	204	180	170
3 195g	118	126	124	210	168	168
4 190g	126	124	116	205	170	170
5 195g	114	120	130	195	165	160
6 210g	116	125	122	190	180	180

Tier	F_v	F_{150}	F_{180}	FH_v	FH_{150}	FH_{180}
1 195g	120	125	125	196	200	205
2 200g	118	124	116	210	200	195
3 180g	128	125	116	190	200	204
4 180g	130	115	120	192	190	200
5 205g	115	118	125	200	196	190
6 195g	124	125	118	180	195	184

Tabelle II

Einzelergebnisse der Versuchsanordnung II: 200 mg/kg Tier

Tier	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
1 265g	116	120	110	180	164	158
2 240g	114	116	108	182	160	162
3 255g	118	110	116	184	158	160
4 265g	116	120	116	186	160	162
5 240g	118	120	124	184	158	158
6 250g	120	116	116	190	154	154

Tier	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
1 220g	104	105	108	190	156	164
2 200g	104	102	102	182	156	154
3 220g	105	112	102	194	160	162
4 200g	108	112	110	186	160	160
5 215g	110	104	105	188	160	155
6 215g	106	104	110	185	160	160

Tier	F _v	F ₁₅₀	F ₁₈₀	FH _v	FH ₁₅₀	FH ₁₈₀
1 185g	120	128	120	195	180	170
2 195g	125	125	128	195	165	180
3 200g	120	125	120	175	180	180
4 210g	118	120	128	170	195	160
5 235g	120	128	125	185	180	195
6 200g	120	125	116	185	180	180

Tabelle III

Einzelergebnisse der Versuchsanordnung III: 100 mg/kg Tier

Tier	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
1 235g	120	130	120	170	150	150
2 235g	120	130	130	160	140	150
3 235g	126	130	130	165	140	160
4 195g	120	120	120	160	155	150
5 225g	120	125	120	165	150	160
6 235g	116	120	120	170	160	160

Tier	F _v	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _v	FH ₉₀	FH ₁₂₀
1 200g	125	130	120	160	150	160
2 210g	120	115	130	165	160	150
3 210g	118	120	118	165	160	160
4 185g	120	120	120	170	170	170
5 220g	120	125	125	170	170	165
6 230g	120	115	115	175	170	175

Tabelle IV

Einzelergebnisse der Versuchsanordnung IV: 50 mg/kg Tier

Tier	F _v	F ₃₀	F ₆₀	FH _v	FH ₃₀	FH ₆₀
1 205g	124	120	120	200	210	205
2 225g	116	120	120	195	200	200
3 235g	120	125	118	200	205	208
4 225g	125	120	128	180	195	192
5 230g	118	130	120	205	208	205
6 220g	115	118	124	200	195	180

Anmerkungen

"F_v" bzw. "FH_v" in den Tabellen bezeichnen die Quaddeln, die vor der Applikation von Paracetamol_vlösung gesetzt wurden. Die Indexzahlen geben die Zeiten der Quaddelsetzung nach der Paracetamolapplikation an.

Die Abbildungen I - IV zeigen in zeitlichem Kurvenverlauf die Mittelwertsdifferenzen der Hemmung der Hyaluronidaseaktivität in Abhängigkeit von der Dosis der jeweiligen Versuchsanordnung.

VERSUCHSANORDNUNG I

400 mg Paracetamol / kg Tier
= 80 mg / 200 g Tier

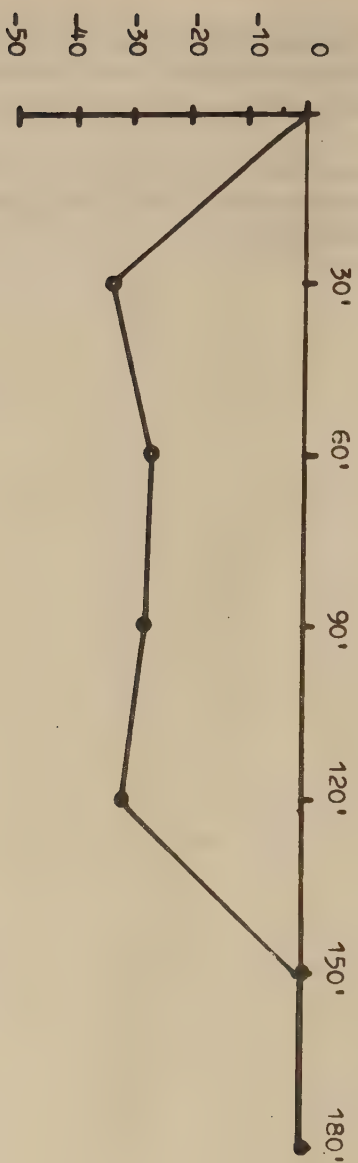


ABB. I

VERSUCHSANORDNUNG II

200 mg Paracetamol / kg Tier
= 40 mg / 200 g Tier

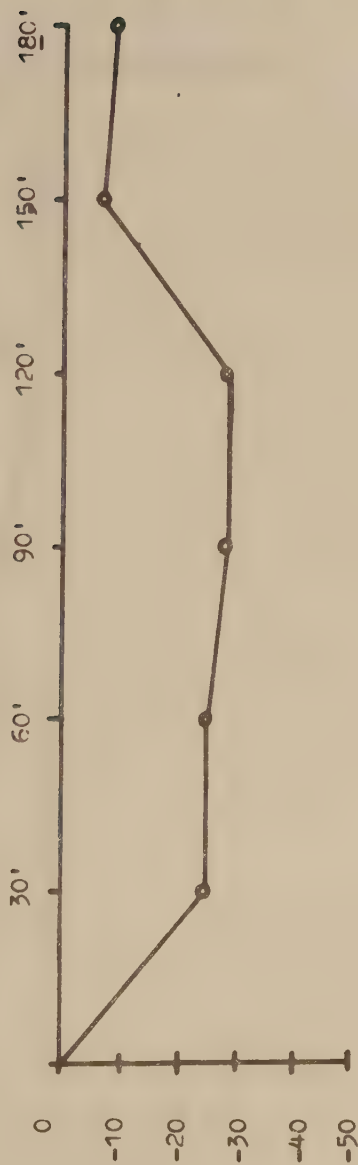


ABB. II

VERSUCHSANORDNUNG III

100 mg Paracetamol / kg Tier
= 20 mg / 200 g Tier

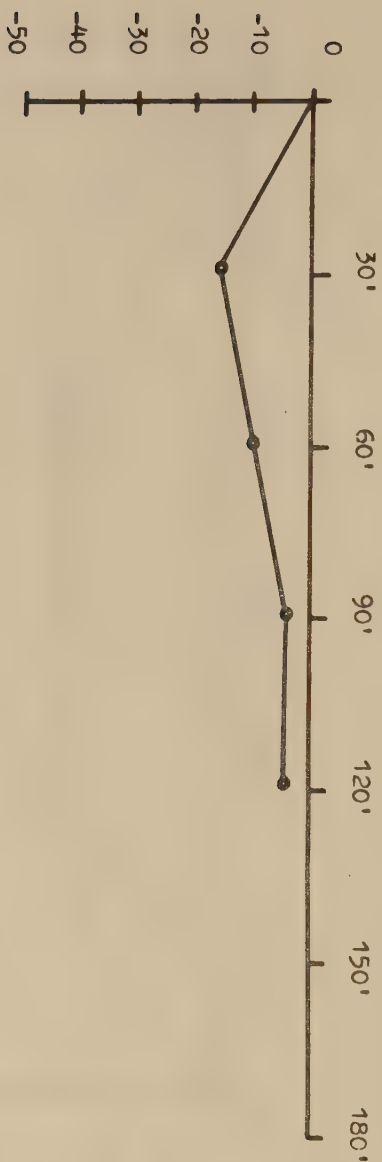


ABB. III

VERSUCHSANORDNUNG IV

50 mg Paracetamol / kg Tier
= 10 mg / 200 g Tier

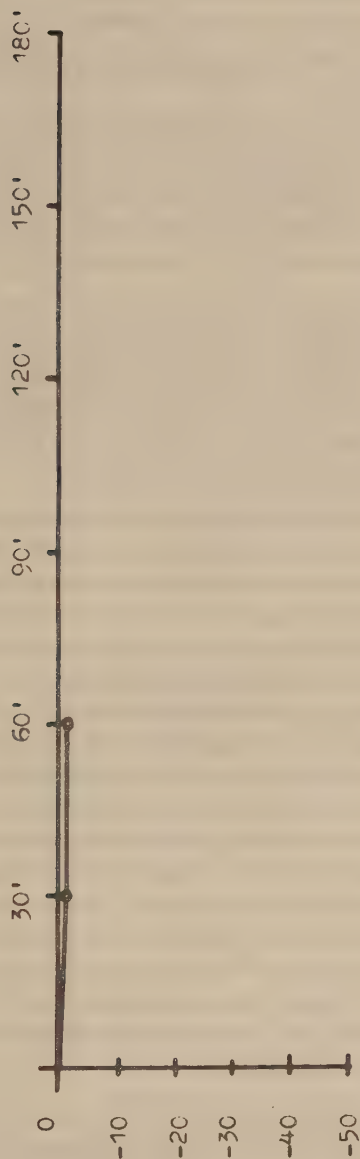


ABB. IV

STATISTISCHE BEWERTUNG DER PRÜFUNGSERGEBNISSE

1) Beschreibende Statistik

Um die Heterogenität zwischen den Versuchstieren hinsichtlich ihrer Ausgangswerte auszuschalten, wurde für die statistische Bewertung der Prüfungsergebnisse für jedes Versuchstier die individuelle Abweichung nach Applikation eines Verfahrens gegenüber dem zugehörigen Ausgangswert herangezogen (Abweichungen vom Ausgangswert).

In den Abbildungen V-VIII haben wir für jede Versuchsanordnung die beobachteten mittleren Abweichungen gegenüber dem Ausgangswert für die reine Farbstoff-Quaddel und für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel dargestellt. Außerdem wurde für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel die quadratische Regression eingezeichnet, die wir ab der Beobachtungszeit 30 Minuten in jeder Versuchsanordnung berechnet haben.

Mit diesen quadratischen Regressionen sollte deskriptiv geklärt werden, inwieweit zwischen den verschiedenen Beobachtungszeitpunkten ein systematischer Verlauf der Abweichungen der Farbstoff - Hyaluronidase - Quaddel vorliegt. Die statistische Überprüfung dieses Sachverhaltes ergibt, daß dies für die Versuchsanordnungen I und II nicht der Fall ist. Die entsprechenden Abbildungen machen deutlich, inwieweit im Verhalten der Abweichungen der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel zu den verschiedenen Zeitpunkten in diesen Versuchsanordnungen kein kontinuierliches Verhalten vorliegt: Die Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings zu den jeweils zwei letzten Beobachtungszeitpunkten ist in diesen Versuchsanordnungen praktisch gleich, während auf der Grundlage eines kontinuierlichen Verhaltens zu erwarten gewesen wäre, daß die Hemmung zu dem früheren dieser beiden Zeitpunkte größer ist als zu dem späteren. Es macht sich hier möglicherweise bemerkbar, daß innerhalb der gleichen Versuchsanordnung die Beobachtungszeitpunkte der einzelnen Versuchsreihen sich nicht überlappen. Möglicherweise sind auch die Intervalle zwischen den einzelnen Beobachtungszeitpunkten im Hinblick auf die Wirkungsdauer der geprüften Substanzen in den geprüften Dosierungen zu groß.

Wegen dieser mangelnden Anpassung der quadratischen Regressionen haben wir bei der statistischen Bewertung insgesamt davon abgesehen, das Verhalten der Abweichungen der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel durch ein "Wirkungsintegral" zu charakterisieren. In den mit der Nummer VI, IX, XII und XIV

gekennzeichneten Tabellen haben wir das Verhalten der Farbstoff-Quaddel dargestellt. Für jeden Zeitpunkt ist hier das arithmetische Mittel der beobachteten Abweichungen sowie der zugehörige simultane 95%-Konfidenzbereich angegeben. Innerhalb einer Versuchsanordnung kann für alle arithmetischen Mittel, deren Konfidenzbereich den Wert Null nicht enthält, behauptet werden, daß es sich hierbei um eine statistisch gesicherte Veränderung des Spreadings der reinen Farbstoff-Quaddel zu dem betreffenden Zeitpunkt handelt. Die Gesamtaussage für eine Versuchsanordnung ist dabei mit einer maximalen Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% behaftet. Berücksichtigt man die Größe dieser Konfidenzbereiche, so ergibt sich, daß in keiner der Versuchsanordnungen eine statistisch faßbare, systematische Veränderung der reinen Farbstoff-Quaddel vorliegt.

In den mit der Nummer VII, X, XIII und XV gekennzeichneten Tabellen wurde das Ergebnis der statistischen Bewertung des Verhaltens der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel dargestellt. Auch hier wurde für jeden Beobachtungszeitpunkt die mittlere Abweichung und der zugehörige simultane 95%-Konfidenzbereich angegeben. Die Interpretation dieser statistischen Parameter entspricht derjenigen, die bereits oben für das Verhalten der reinen Farbstoff-Quaddel erläutert wurde. Aus der Größe dieser Konfidenzbereiche ergibt sich, daß eine statistisch faßbare Hemmung des Spreadings der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel in den folgenden Versuchsanordnungen vorliegt:
I, II, III.

In der Versuchsanordnung IV kann die beobachtete Abweichung im Spreading der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel noch durchaus zufallsbedingt sein. Soweit in einer Versuchsanordnung eine statistisch faßbare Hemmung im Spreading der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel beobachtet werden konnte, ist die Größe dieser Hemmung vom Beobachtungszeitpunkt abhängig. Hierbei wird man jedoch wiederum berücksichtigen müssen, daß in einigen Versuchsanordnungen die Beobachtungen zu den beiden letzten Versuchszeiten möglicherweise "Ausreißer" darstellen (s. oben die Diskussion zu den Abbildungen). Bei einem Wirkungsvergleich zwischen den verschiedenen Versuchsanordnungen wird man möglicherweise diese beiden letzten Versuchszeiten außer Betracht lassen müssen.

In den vier durchgeführten Versuchsanordnungen zeigt sich eine Dosis-Wirkungs-Relation sowohl hinsichtlich der absoluten Größe des Spreadings als auch hinsichtlich der Wirkungsdauer. In der Dosierung 50 mg/kg zeigt sich keine statistisch faßbare Hemmung des Spreadings der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel, während dies in den Dosierungen 100 mg/kg und allen höheren Dosierungen der Fall ist. Bei 100 mg/kg Paracetamol liegt die Wirkungsdauer zwischen 60' und 90', in den beiden höheren Dosierungen liegt sie zwischen 120' und 150'.

2) Prüfende Statistik

Prüfung der Ausgangslagen

1. Prüffrage: Innerhalb der gleichen Versuchsanordnung liegen zwischen den Versuchsreihen keine Unterschiede in den Verteilungen der Ausgangswerte vor.

Test-Verfahren: BARTLETT-Test und einfache Varianz-Analyse.

Test-Ergebnis: s. die Zusammenstellung in den jeweiligen Tabellen V, VIII, XI.

Formale Konsequenz: Hinsichtlich der Varianzen liegen in keiner Versuchsanordnung Unterschiede zwischen den zugehörigen Versuchsreihen vor.
In der Versuchsanordnung II unterscheiden sich die Ausgangslagen für die Farbstoff-Quaddeln. Die Art der Unterschiede ergibt sich aus den arithmetischen Mitteln und den zugehörigen minimalen Mittelwertsdifferenzen.

Im Hinblick auf die kleinen Stichprobenumfänge je Versuchsreihe ist es nicht möglich mit statistischen Mitteln zu beurteilen, inwieweit etwaige Unterschiede in den Ausgangslagen das Versuchsergebnis beeinflussen bzw. verfälschen.

Verhalten der Farbstoff-Quaddel während des Versuches

2. Prüffrage: Innerhalb der gleichen Versuchsanordnung liegen zwischen den verschiedenen Beobachtungszeitpunkten keine Verteilungsunterschiede für die Abweichungen der Farbstoff-Quaddel von ihrem jeweiligen Ausgangswert vor.

Test-Verfahren: BARTLETT-Test und einfache Varianz-Analyse.

Test-Ergebnis: s. die Zusammenstellungen in den jeweiligen Tabellen VI, IX, XII, und XIV.

Formale Konsequenz: Die Prüffrage kann für alle Prüfungsanordnungen akzeptiert werden. Das Verhalten der Abweichungen der reinen Farbstoff-Quaddel weist in keiner der Versuchsanordnungen Verteilungsunterschiede zwischen den verschiedenen Beobachtungszeitpunkten, weder hinsichtlich der Varianzen noch der arithmetischen Mittel, auf.

Verhalten der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel während des Versuches

3. Prüffrage: Innerhalb der gleichen Versuchsanordnung liegen zwischen den verschiedenen Beobachtungszeitpunkten keine Verteilungsunterschiede für die Abweichungen der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel von ihrem jeweiligen Ausgangswert vor.
- Test-Verfahren: BARTLETT-Test und kombinierte Varianz- und Regressions-Analyse.
- Test-Ergebnis: s. die Zusammenstellungen in den jeweiligen Tabellen VII, X, XIII, und XV.
- Formale Konsequenz: In der Versuchsanordnung IV liegen Verteilungsunterschiede hinsichtlich der Varianzen zu den beiden Beobachtungszeitpunkten vor: Die Variabilität in der Reaktion der Tiere ist zu dem Zeitpunkt 60' wesentlich größer als zu dem Zeitpunkt 30'. Möglicherweise handelt es sich hierbei um einen Effekt der relativ niedrigen Dosierung, der lediglich bei einem kleinen Teil der Tiere eine Reaktion bewirkt.
- In der Versuchsanordnung II liegt ebenfalls eine Heterogenität zwischen den Beobachtungszeitpunkten hinsichtlich der Varianzen vor. Die Variabilität zu den Zeitpunkten 150' und 180' ist wesentlich größer als zu allen früheren Zeitpunkten. Auch hier kann es sich möglicherweise um die Manifestation von Unterschieden in der Wirkungsdauer bei den einzelnen Tieren handeln.
- Die diskutierte Heterogenität in den Varianzen dürfte für die Interpretation der Ergebnisse der Versuche keine allzugroße Bedeutung besitzen, da einerseits die Dosierung 50 mg/kg Paracetamol als unwirksam angesehen werden muß, andererseits die Ergebnisse zu den Zeitpunkten 150' und 180' nach 200 mg/kg Paracetamol auch aus anderen Gründen problematisch sind (s. unten).
- Unter Berücksichtigung der simultanen Konfidenzbereiche ergibt sich, daß sich in den Versuchsanordnungen I, II, III statistisch faßbare Hemmungen des Hyaluronidase-Spreadings feststellen lassen; in der Versuchsanordnung

IV

muß die beobachtete Abweichung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln noch als zufällig angesehen werden. Die in der Regressions-Analyse durchgeführte Anpassung einer quadratischen Regression der Abweichungen nach der Beobachtungszeit ist nur für die Versuchsanordnungen

III, IV

zulässig. In allen anderen Versuchsanordnungen zeigen die Beobachtungen eine statistisch faßbare Abweichung von den Regressionen. Eine nähere Analyse ergibt, daß diese Abweichungen jeweils durch das Verhalten zu den beiden letzten Beobachtungszeitpunkten bedingt sind. Ob es sich hierbei um einen Effekt handelt, der durch das Abklingen der Wirkung bedingt ist oder um einen Effekt der spezifischen Form der Versuchsanlage, kann nicht entschieden werden.

Vergleich der Ausgangslagen Paracetamol 400 mg/kg

1. Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	2	14' 78	7' 39	-
Innerhalb Versuchsreihen	15	534' 16	35' 61	
Gesamt-Varianz	17	548' 94	32' 29	

BARTLETT-Test: $n = 2; x^2 = 0'001$

$$s_x^2 = 2'4362; s_g^2 = 1'4065$$

2. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	2	189' 78	94' 89	1' 03
Innerhalb Versuchsreihen	15	1.375' 99	91' 73	
Gesamt-Varianz	17	1.565' 77	92' 10	

BARTLETT-Test: $n = 2; x^2 = 0'288$

$$s_x^2 = 3'9101, s_g^2 = 2'2575$$

3. Arithmetische Mittel

V-Reihe	$\bar{x}$ (F)	$\bar{x}$ (FH)
30' / 60'	122' 67 + 8' 94	196' 67 + 14' 35
90' / 120'	120' 67 + 8' 94	202' 33 + 14' 35
150' / 180'	122' 50 + 8' 94	194' 67 + 14' 35
Gesamt	121' 94 + 3' 00	197' 89 + 4' 81

Tab. V

Farbstoff-Quaddel
Abweichungen vom Ausgangswert
Paracetamol 400 mg/kg

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Zeiten	5	141' 14	28' 23	-
Innerhalb Zeiten	30	1.882' 49	62' 75	
Gesamt-Varianz	35	2.023' 63	57' 82	

BARTLETT-Test: $n = 5; \chi^2 = 2' 762$

$$s_x^2 = 3' 2339$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{X} (F)$
30'	- 0' 33 + <u>8' 80</u>
60'	- 2' 83 + <u>8' 80</u>
90'	2' 00 + <u>8' 80</u>
120'	2' 33 + <u>8' 80</u>
150'	- 0' 50 + <u>8' 80</u>
180'	- 2' 50 + <u>8' 80</u>

Tab. VI

Farbstoff-Hyase-Quaddel
Abweichungen vom Ausgangswert
Paracetamol 400 mg/kg

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Quadr. Regression	2	6.535' 97	3.267' 99	<u>17' 81</u>
Rest-Abweichung	3	2.265' 36	755' 12	<u>4' 12</u>
Innerhalb Zeiten	30	5.503' 65	183' 46	
Gesamt-Varianz	35	14.304' 98	408' 71	

BARTLETT-Test: $n = 5; \chi^2 = 2' 967$

$$s_x^2 = 5' 5295$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (FH)
30'	- 33' 00 + <u>15' 04</u>
60'	- 25' 33 + <u>15' 04</u>
90'	- 30' 17 + <u>15' 04</u>
120'	- 34' 33 + <u>15' 04</u>
150'	2' 17 + <u>15' 04</u>
180'	1' 67 + <u>15' 04</u>

Tab. VII

Vergleich der Ausgangslagen
Paracetamol 200 mg/kg

1. Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	2	670'11	335'06	<u>64'19</u>
Innerhalb Versuchsreihen	15	78'33	5'22	
Gesamt-Varianz	17	748'44	44'03	

BARTLETT-Test: $n = 2$; $x^2 = 0'092$

$s_x^- = 0'9329$, $s_g = 0'5386$

2. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	2	42'33	21'17	-
Innerhalb Versuchsreihen	15	667'66	44'51	
Gesamt-Varianz	17	709'99	41'76	

BARTLETT-Test: $n = 2$; $x^2 = \underline{7'017}$

$s_x^- = 2'7237$, $s_g = 1'5725$

3. Arithmetische Mittel

V-Reihe	$\bar{x}$ (F)	$\bar{x}$ (FH)
30' / 60'	117'00 + <u>3'42</u>	184'33 + <u>10'00</u>
90' / 120'	106'17 + <u>3'42</u>	187'50 + <u>10'00</u>
150' / 180'	120'50 + <u>3'42</u>	184'17 + <u>10'00</u>
Gesamt	114'56 + <u>1'15</u>	185'33 + <u>3'35</u>

Tab. VIII

Farbstoff-Quaddel
Abweichungen vom Ausgangswert
Paracetamol 200 mg/kg

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Zeiten	5	159'56	31'91	1'66
Innerhalb Zeiten	30	575'99	19'20	
Gesamt-Varianz	35	735'55	21'02	

BARTLETT-Test: $n = 5$; $x^2 = 1'231$

$$s_x^2 = 1'7888$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	x(F)
30'	0'00 + <u>4'87</u>
60'	- 2'00 + <u>4'87</u>
90'	0'33 + <u>4'87</u>
120'	0'00 + <u>4'87</u>
150'	4'67 + <u>4'87</u>
180'	2'33 + <u>4'87</u>

Tab. IX

Farbstoff-Hyase-Quaddel
Abweichungen vom Ausgangswert
Paracetamol 200 mg/kg

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Quadr. Regression	2	2.810'09	1.405'05	<u>13'74</u>
Rest-Abweichung	3	985'13	328'38	<u>3'21</u>
Innerhalb Zeiten	30	3.066'98	102'23	
Gesamt-Varianz	35	6.862'20	196'06	

BARTLETT-Test: $n = 5; \chi^2 = \underline{21'587}$

$$s_x^2 = 4'1278$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (FH)
30'	- 25'33 + <u>11'23</u>
60'	- 25'33 + <u>11'23</u>
90'	- 28'83 + <u>11'23</u>
120'	- 28'33 + <u>11'23</u>
150'	- 4'17 + <u>11'23</u>
180'	- 6'67 + <u>11'23</u>

Tab. X

Vergleich der Ausgangslagen
Paracetamol 100 mg/kg

1. Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	1	0'08	0'08	-
Innerhalb Versuchsreihen	10	78'83	7'88	
Gesamt-Varianz	11	78'91	7'17	

BARTLETT-Test: $n = 1$; $x^2 = 0'459$

$s_x^- = 1'1462$, $s_g = 0'8105$

2. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	1	18'75	18'75	-
Innerhalb Versuchsreihen	10	237'50	23'75	
Gesamt-Varianz	11	256'25	23'30	

BARTLETT-Test: $n = 1$; $x^2 = 0'147$

$s_x^- = 1'9896$, $s_g = 1'4068$

3. Arithmetische Mittel

V-Reihe	$\bar{x}$ (F)	$\bar{x}$ (FH)
30' / 60'	120'33 $\pm$ 3'61	165'00 $\pm$ 6'27
90' / 120'	120'50 $\pm$ 3'61	167'50 $\pm$ 6'27
Gesamt	120'42 $\pm$ 1'81	166'25 $\pm$ 3'13

Tab. XI

Farbstoff-Quaddel
Abweichungen vom Ausgangswert
Paracetamol 100 mg/kg

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Zeiten	3	100' 17	33' 39	1' 56
Innerhalb Zeiten	20	427' 66	21' 38	
Gesamt-Varianz	23	527' 83	22' 95	

BARTLETT-Test: $n = 3; \chi^2 = 1' 146$

$$s_x^2 = 2' 3121$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (F)
30'	5' 50 + 6' 13
60'	3' 00 + 6' 13
90'	0' 33 + 6' 13
120'	0' 83 + 6' 13

Tab. XII

Farbstoff-Hyase-Quaddel
Abweichungen vom Ausgangswert
Paracetamol 100 mg/kg

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Quadr. Regression	2	551' 25	275' 63	8' 32
Rest-Abweichung	1	20' 21	10' 21	-
Innerhalb Zeiten	20	662' 49	33' 12	
Gesamt-Varianz	23	1.223' 95	53' 22	

BARTLETT-Test: $n = 3; x^2 = 2' 094$

$$s_x^2 = 2' 8777$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}(\text{FH})$
30'	- 15' 83 $\pm$ 7' 63
60'	- 10' 00 $\pm$ 7' 63
90'	- 4' 17 $\pm$ 7' 63
120'	- 4' 17 $\pm$ 7' 63

Tab. XIII

Farbstoff-Quaddel
Abweichungen vom Ausgangswert
Paracetamol 50 mg/kg

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Zeiten	1	0' 75	0' 75	-
Innerhalb Zeiten	10	303' 50	30' 35	
Gesamt-Varianz	11	304' 25	27' 66	

BARTLETT-Test: $n = 1; \chi^2 = 0.493$

$$s_x^2 = 3.8955$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (F)
30'	$2' 50 + 10' 01$
60'	$2' 00 + 10' 01$

Tab. XIV

Farbstoff-Hyase-Quaddel
Abweichungen vom Ausgangswert
Paracetamol 50 mg/kg

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Zeiten	1	44' 08	44' 08	-
Innerhalb Zeiten	10	868' 83	86' 88	
Gesamt-Varianz	11	912' 91	82' 99	

BARTLETT-Test: $n = 1, \chi^2 = 12' 812$

$s_x^2 = 6' 5910$

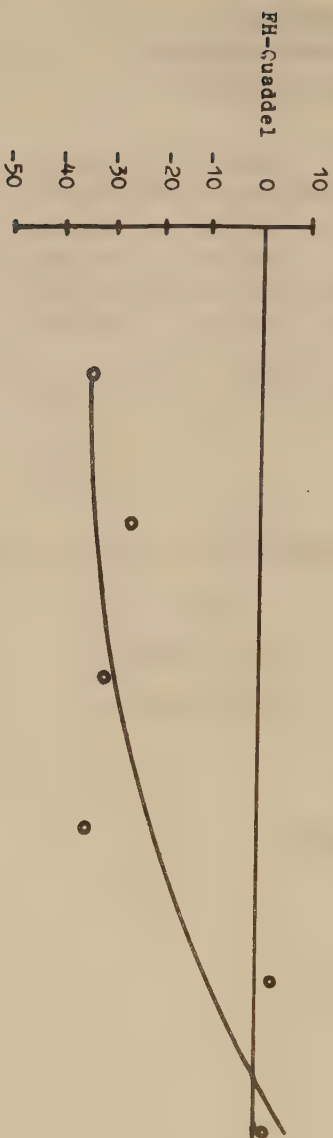
Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (FH)
30'	5' 50 + 16' 94
60'	1' 67 + 16' 94

Tab. XV

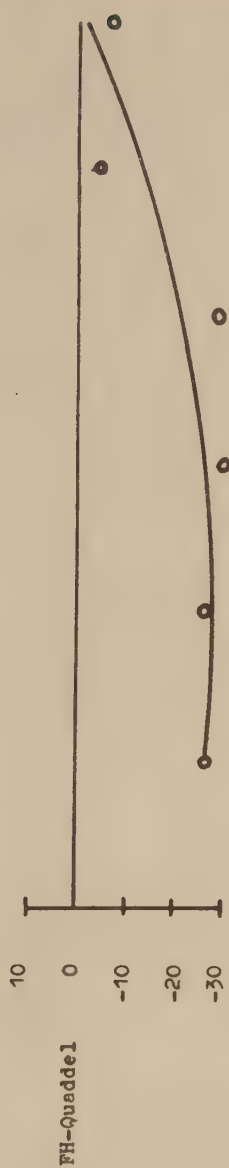
ABWEICHUNGEN VON DEN AUSGANGSWERTEN

Paracetamol 400 mg / kg



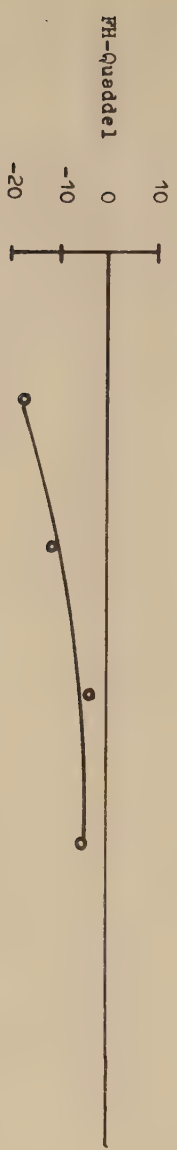
ABWEICHUNGEN VON DEN AUSGANGSWERTEN

Paracetamol 200 mg / kg



ABWEICHUNGEN VON DEN AUSGANGSWERTEN

Paracetamol 100 mg / kg



ABWEICHUNGEN VON DEN AUSGANGSWERTEN

Paracetamol 50 mg / kg



DISKUSSION

Im Zuge der Untersuchungen entzündungshemmender Substanzen auf ihre hyaluronidasehemmende Wirkung wurden in dieser Arbeit entsprechende Tierversuche an weißen Ratten mit Paracetamol (N-acetyl-p-aminophenol) mit Hilfe eines Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings durchgeführt. Durch Anwendung verschiedener Dosen sollte gleichzeitig die Wirksamkeitsschwelle festgestellt werden.

Die Untersuchungen ergaben, daß bei der oralen Applikation von 400 mg/kg bzw. 200 mg/kg Tiergewicht eine maximale Hemmung der Hyaluronidaseaktivität bei fast gleichem zeitlichen Kurvenverlauf erzielt wird. Damit ist bei Dosen von über 200 mg/kg Paracetamol ein Wirksamkeitszuwachs nicht mehr zu erwarten. Das bedeutet, daß bei der oralen Applikation von 200 mg/kg das Maximum der hyaluronidasehemmenden Wirkung erreicht ist. Die hier vorliegenden Verhältnisse sind in den Abbildungen I und II dargestellt. Aus den Abbildungen geht hervor, daß bei der ersten Bestimmung 30 Minuten nach Applikation das Maximum der Hemmung bereits vorliegt und daß der hyaluronidasehemmende Effekt in praktisch gleichbleibendem Ausmaß bis 120 Minuten p. a. anhält, um dann 150 Minuten p. a. vollständig abgeklungen zu sein.

Bei der Applikation von 100 mg/kg Paracetamol ist die hyaluronidasehemmende Wirkung bereits deutlich schwächer, bei 60 Minuten p. a. geht sie deutlich zurück, um bei 90 Minuten p. a. nicht mehr signifikant nachweisbar zu sein (s. Abbildung III). Der hyaluronidasehemmende Effekt von 100 mg/kg Paracetamol ist jedoch statistisch noch zu sichern.

Nach Applikation von 50 mg/kg ist eine statistische Sicherung der hyaluronidasehemmenden Wirkung nicht mehr möglich, wie auch schon aus dem in der Abbildung IV dargestellten Kurvenverlauf zu erwarten war.

Mit diesen Ergebnissen wird der hyaluronidasehemmende Effekt des Paracetamol bei weißen Ratten eindeutig nachgewiesen. Die noch wirksame Grenzdosis liegt zwischen 50 und 100 mg/kg Paracetamol. Als nicht mehr wirksame Dosis kann damit die Dosierung von 50 mg/kg bezeichnet werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe eines Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading-Tests wurde die hyaluronidasehemmende Wirkung des Paracetamol (N-Acetyl-p-aminophenol) nachgewiesen. Die diesbezüglich wirksame Grenzdosis liegt bei oraler Applikation bei weißen Ratten zwischen 50 und 100 mg/kg Tiergewicht. Bei einer Dosis über 200 mg/kg tritt keine Wirkungssteigerung mehr auf.

Herrn Professor Dr. W. Seitz möchte ich für die Überlassung des Themas und Übernahme des Referates danken.

Herrn Dr. H. Mathies danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Ratschläge während der Versuche und während der Abfassung der Arbeit.

Herrn Dipl. -Math. K. Liebrich bin ich für die Bearbeitung der statistischen Auswertung sehr dankbar.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Armento L. u. Mitarbeiter: Dtsch. med. Wschr. 62, 1325 (1936)
- 2) Brown E.E. u. Wasson, V.: J. Pediatr. St. Louis 18, 328 (1941)
- 3) Epstein E.L. u. Grennsman E.B.: Arch. Int. Med. Chicago 1077 (1941)
- 4) Gil, J.R. u. Guerra, F.: Arch. Int. cardiol. Med. 17, 733, (1947)
- 5) Ratschow, M.: Ther. Gegenw. 90, 129 (1951)
- 6) Klose, W.: Zschr. Rheumaforsch. 12, 136 (1953)
- 7) Gibian, H.: Erg. d. Enzymforsch. 13, 1 (1954)
- 8) Good, M.G.: Dtsch. med. Wschr. 76, 830 (1951)
- 9) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 10) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin. Wschr. 35, 205 (1957)
- 11) Mathies, H.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 64. Kongr. 1958
- 12) Mathies, H.: Arzneimittelforsch. 8, 235 (1958)
- 13) Mathies, H. u. Biechele, I. u. Hartmann, M.: Ärtzl. Forsch. XIV,
I/160 (1960)
- 14) Mathies, H., Batisweiler, T., Kreislmaier, G. u. Will, E.:
Arzneimittelforsch. 10, 484 (1960)
- 15) Sayers, G. u. Sayers, M.: Endocrinology (Springfield) 40, 256, (1947)
- 16) Scheufele, R.: Diss. München 1958
- 17) Schmidt, D.: Diss. München 1960
- 18) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. u. Schmidt, D.:
Med. Exp. 1, 64 (1959)
- 19) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. u. Pharmakol. 14, 225, (1955)
- 20) Schwalbach, K.: Diss. München 1959
- 21) Oestreich, G.: Diss. München 1961
- 22) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 308, 1959

- 23) Bachmann, R.: Handbuch d. mikrosk. Anat. d. Menschen VI/5
1954, 222 ff.
- 24) Eichholtz, F.: Int. Pharmacy a. Pharmacol. London, 7, 497
(1955)
- 25) Mathies, H.: Verh. d. Ges. f. Inn. Med. 65, 447, (1958)
- 26) Staub, H.: Exp. 2, 29 (1946) u. Helv. Physiol. acta 3, 117,
(1945)
- 27) Kuschinsky, G. u. Lüllmann, H.: Kurzes Lehrb. d. Pharmakol.
III/B/1/c, 116 ff, 1964
- 28) Miescher, P. u. Pletscher, A.: Schweiz. Med. Wschr. Nr. 42 (1958)
- 29) Vest, M.: Dtsch. med. wschr. 87. Jhgg., Nr. 42, (1962)
- 30) Gwilt, I.R., Robertson, Mc. Chesney, E.W.: I. Pharm. 15, 7 (1963)
- 31) Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz, R. (19)
- 32) Madinaveitia, J.: J. Biochem, 32, 1806 (1938)

LEBENS LAUF

Am 20. 12. 1940 wurde ich als Tochter des Kaufmanns Gottfried Menke und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Dierich in Kellen/Kleve geboren.

Von Herbst 1947 bis Ostern 1951 besuchte ich die Volksschule in Herkersdorf/Sieg.

Von 1951 bis 1960 besuchte ich das Staatliche Neusprachliche Gymnasium in Betzdorf/Sieg und machte an dieser Schule im März 1960 das Abitur.

Im Sommersemester 1960 begann ich an der Universität in Bonn das Studium der Medizin. Dort absolvierte ich im April 1961 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und im April 1963 die Ärztliche Vorprüfung.

Zum Studium der klinischen Semester schrieb ich mich an der Universität in München ein und beendete dort im Dezember 1966 die Ärztliche Prüfung.

Von Januar 1967 bis April 1967 war ich als Medizinalassistentin in der chirurgischen Abteilung der Universitätskinderklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital tätig.

Seit Mai 1967 bin ich im Städt. Krankenhaus Pfaffenhofen zur Ableistung der geburtshilflichen Pflichtzeit tätig.

Am 20.12.1940 wurde ich als Tochter des Reichsaerzteamts in Berlin geboren. Ich bin die einzige Tochter des Reichsaerzteamts in Berlin. Ich bin die einzige Tochter des Reichsaerzteamts in Berlin. Ich bin die einzige Tochter des Reichsaerzteamts in Berlin.

Von Januar 1941 bis April 1942 war ich als Medizinalassistentin in der chirurgischen Abteilung des Universitätsklinikums in Berlin. Von April 1942 bis April 1943 war ich als Medizinalassistentin in der chirurgischen Abteilung des Universitätsklinikums in Berlin. Von April 1943 bis April 1944 war ich als Medizinalassistentin in der chirurgischen Abteilung des Universitätsklinikums in Berlin.

Von Januar 1945 bis April 1946 war ich als Medizinalassistentin in der chirurgischen Abteilung des Universitätsklinikums in Berlin. Von April 1946 bis April 1947 war ich als Medizinalassistentin in der chirurgischen Abteilung des Universitätsklinikums in Berlin. Von April 1947 bis April 1948 war ich als Medizinalassistentin in der chirurgischen Abteilung des Universitätsklinikums in Berlin.

Von Januar 1949 bis April 1950 war ich als Medizinalassistentin in der chirurgischen Abteilung des Universitätsklinikums in Berlin. Von April 1950 bis April 1951 war ich als Medizinalassistentin in der chirurgischen Abteilung des Universitätsklinikums in Berlin. Von April 1951 bis April 1952 war ich als Medizinalassistentin in der chirurgischen Abteilung des Universitätsklinikums in Berlin.

